

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-15-0239**

Analýza potenciálu a úlohy výstelky centrálného kanála pri regenerácii miechy

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Juraj Ševc, PhD.**

Príjemca **Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach - Prírodovedecká fakulta**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav biologických a ekologických vied, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach
Neurobiologický ústav, Biomedicínske centrum Slovenskej akadémie vied

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Laboratories of Pharmacology, Department of Health Sciences, University of Milan, Taliansko

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

v projekte sa nepočítalo s podávaním patentov, či úžitkových vzorov

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Tonelli Gombalová, Z., Košuth, J., Alexovič Matiašová, A., Zrubáková, J., Žezula, I., Giallongo, T., Di Giulio, AM., Carelli, S., Tomašková, L., Daxnerová, Z., Ševc, J.* (2020) Majority of cerebrospinal fluid-contacting neurons in the spinal cord of C57Bl/6N mice is present in ectopic position unlike in other studied experimental mice strains and mammalian species. Journal of Comparative Neurology 528, pp. 2523-2550
Angelidis, A., Račková, E., Arnoul, P., Závodská, A., Raček, A., Martončíková, M*. (2018) Disrupted migration and proliferation of neuroblasts after postnatal administration of angiogenesis inhibitor, Brain Research, 1698, pp. 121 - 129
Alexovič Matiašová, A., Ševc, J.*, Tomori, Z., Gombalová, Z., Gedrová, Š., and Daxnerová, Z. (2017). Quantitative analyses of cellularity and proliferative activity reveals the dynamics of the central canal lining during postnatal development of the rat. Journal of Comparative Neurology 525 (3), pp. 693-707

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt spadá do kategórie základného výskumu. Poznatky nadobudnuté pri riešení cieľov projektu pomôžu nielen posúvať ďalej hranice poznania v oblasti vývinovej neurobiológie, ale majú tiež pomôcť zodpovedať na otázku, či endogénne kmeňové bunky majú potenciál predstavovať perspektívnu regeneračnú stratégiu v rámci neuroregeneratívneho výskumu, alebo je potrebné obrátiť pozornosť na iné, vhodnejšie typy stratégií. Počas riešenia projektu boli vyvinuté, alebo zdokonalené viaceré metodiky: model minimálneho poranenia miechy,

metodika na kvantifikáciu počtu buniek v Z-stacku pomocou novovyvinutého softvéru Confocounter, implementácia zariadenia Eye Tracker na vyhodnotenie stereologických vzoriek v programoch DPV a Confocounter, metodika stanovenie dĺžky bunkového cyklu in situ, či metodika na simuláciu (matematické modelovanie) prírastku bunkových populácií

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Projekt APVV-15-0239 je zameraný na charakterizáciu vývinových procesov, ktoré sa odohrávajú vo výstelke centrálného kanála miechy potkana počas perinatálneho vývinu s cieľom vyšetriť kontinuitu populácií kmeňových a progenitorových buniek prítomných v tejto oblasti a získať tak dôležité poznatky o identite, fenotype, biológii, vlastnostiach a pôvode kmeňových buniek nervového systému v dospelosti. Zistili sme, že schopnosť produkovať neuróny má v rôznych častiach nervového systému a v rôznych fázach ontogenézy pomerne heterogénna skupina buniek. V priebehu ontogenézy populácie buniek tvoriacich výstelku centrálného kanála miechy postupne diferencujú, čím sa obmedzuje ich spontánny potenciál v in vivo, ako aj in vitro podmienkach. V priebehu riešenia projektu sme zmapovali neskorú produkciu ektopickej skupiny cerebrospinalný mok kontaktujúcich neurónov, produkciu astrocytov v perinatálnom období, či produkciu ependýmových buniek a buniek neznámeho typu na základe matematického modelovania. Na modelovom príklade rostrálnej migračnej dráhy sme dokázali kľúčovú úlohu krvných ciev pri zabezpečení navigácie putujúcim neuroblastom. Migrácia novovzniknutých buniek z výstelky centrálného kanála prebieha odlišným spôsobom, ktorý je indukovaný prerušením kontaktov s okolitými bunkami výstelky a pasívnou translokáciou uvoľnenej bunky mimo výstelky pod tlakom okolitých proliferujúcich buniek. Pri výskume apoptózy pomocou detekcie aktivovanej kaspázy 3 a poštiťpaného proteínu PARP sme zistili, že aktivovaná kaspáza 3 je prítomná vo veľkom počte buniek nielen počas vývinu, ale aj v dospelosti v porovnaní s bunkami, ktoré skutočne podstupia programovanú bunkovú smrť. Naše údaje preto poukazujú na prítomnosť signifikantnej aktivity poštiťpanej kaspázy 3 v gliových bunkách miechy počas perinatálneho obdobia a v dospelosti, ktoré nie sú asociované s procesmi apoptózy. Druhá časť projektu bola zameraná na charakterizáciu procesov prebiehajúcich v oblasti centrálného kanála po poranení s použitím nami vyvinutého modelu minimálneho poranenia u zvierat počas skorého a neskorého postnatálneho vývinu a v dospelosti, pričom zvieratá po zákroku prežili 1-56 dní na zmapovanie procesov prebiehajúcich počas akútnej, sekundárnej a chronickej fázy. Použitie relatívne jednoduchého modelu minimálneho poranenia miechy v rôznych etapách postnatálneho života umožnilo zamerať sa na rozdiely v aktivite a regeneračnej kapacite výstelky centrálného kanála po poranení v čase, keď sa v tejto oblasti nachádzajú odlišné typy kmeňových, resp. progenitorových buniek. Zistili sme, že poranenie vyvolá vo všeobecnosti len miernu a prechodnú reakciu s odlišným prejavom na rôznych úrovniach. Z našich výsledkov vyplýva, že k najväčšej stimulácii buniek výstelky došlo u potkanov s poranením miechy počas neskorého postnatálneho vývinu, k čomu pravdepodobne prispela aj menšia zápalová reakcia v porovnaní so zvieratami s poranením miechy počas skorého postnatálneho vývinu a v dospelosti. Naše výsledky potvrdzujú opodstatnenosť ďalšieho výskumu neuroregeneračných procesoch odohrávajúcich sa počas vývinu so sľubnou perspektívou aj pri uplatnení v humánnej medicíne.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The project APVV-15-0239 is focused on the characterization of developmental processes, which take place in the lining of the central canal of the rat spinal cord during perinatal period. The aim is to describe the continuity of the stem and progenitor cell populations in this area and to obtain the valuable information about the identity, phenotype, biology, features and origin of adult neural stem cells. During the implementation of the project goals we learned that multiple types of cell populations in different parts of nervous system at various stages of ontogenesis possess the ability to generate neurons. Particularly, cells forming the lining of spinal cord central canal undergo differentiation, which is associated with the restriction of their potential in vitro and in vivo conditions. In the experiments, we described the generation of the late subpopulation of ectopic cerebrospinal fluid-contacting neurons; astroglialogenesis in perinatal period; and generation of ependymal cells and unknown cells using mathematical modelling. In rostral migratory stream, which was used

as the model environment, we proved the key role of the blood vessels in navigating of the migratory neuroblasts. However, migration of newly formed cells from the central canal lining is based on different mechanisms, which are induced by the loss of contact with surrounding cells and passive translocation of the released cell outside the central canal lining under the pressure of proliferating surrounding cells. Employing activated Caspase 3 and cleaved PARP antibodies during investigation of apoptosis, we revealed that activated Caspase 3 is present in numerous cells not only during development, but also in adulthood, and its presence is not restricted for apoptotic cells. Our results indicate significant non-apoptotic roles of activated Caspase 3 in glial cells, both during perinatal development and in adulthood. In the second stage of the project we focused on the characterization of processes occurring in central canal area after the injury using in-house minimal injury model in experimental animals during early and late postnatal development and in the adulthood. The animals survived 1-56 days after the surgery to describe the processes which take place in the acute, secondary and chronic phase. Employment of a relatively simple model of spinal cord injury at different stages of postnatal life, allowed us to focus on the differences in the activity and regenerative capacity of the central canal lining in correlation with the presence of different stem cell and progenitor cell populations in the central canal lining during postnatal life. Based on the results, spinal cord injury triggers the mild and transient reactions at different levels. The most prominent reaction of the central canal lining along with the lower inflammatory response were noticed in animals injured during late postnatal development, compared to animals subjected to spinal cord injury during early development as well as in the adulthood. Our results testify the importance of the further research of neuroregenerative processes occurring during the development with the ambition of their employment in the human medicine in the future.